

РОЛЬ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В РАЗВИТИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СРЕДИ МОЛОДЫХ ЖИТЕЛЕЙ СЕВЕРА

Корнеева Е.В.¹, Воевода М.И.², Семаев С.Е.², Максимов В.Н.²

¹БУ ХМАО – Югры «Сургутский государственный университет», Сургут, e-mail: evkorneeva39@rambler.ru;

²Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН), Новосибирск

Цель исследования: изучение сочетанного влияния межгенных взаимодействий на развитие метаболических нарушений среди молодых жителей Севера. В ходе проспективного когортного исследования из 882 пациентов с метаболическим синдромом были выделены следующие группы: городское население – 245 человек (146 женщин и 99 мужчин), сельское население – 354 человека (108 мужчин и 246 женщин), коренное население Севера – 283 ханты, из них 72 мужчины и 211 женщин. Проведено антропометрическое, лабораторное, молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов TCF7L2, MTHFR, ACE, ITGA2B, CSK. Было выявлено, что изучаемые полиморфные локусы генов ACE и CSK ($p=0,0053$) встречались в когорте часто. Частое сочетание определено в парных вариантах: ITGA2B/ CSK (18,0%) и ACE/CSK (16,3%). Среди коренных и сельских жителей сочетание генов ITGA2B/ CSK отмечалось в 18,9% и 18,6% случаев соответственно. Сочетание генотипов ACE/CSK наблюдалось среди жителей села (17,1%). Парные полиморфизмы генов TCF7L2/MTHFR и ACE/ITGA2B встречались в меньшей степени как в когорте, так и в этнических группах – среди 4,3% сельских жителей, 5,3% хантов и 5,8% городского населения. При анализе взаимодействий генов отмечено, что чаще имели место статистически значимые двухлокусные варианты ITGA2B/ CSK и ACE/CSK, из которых ген CSK играет существенную роль в развитии метаболических нарушений.

Ключевые слова: метаболический синдром, однонуклеотидный полиморфизм, межгенные взаимодействия, TCF7L2, MTHFR, ACE, ITGA2B, CSK

THE ROLE OF INTERGENIC INTERACTIONS IN THE DEVELOPMENT OF METABOLIC DISORDERS AMONG YOUNG RESIDENTS OF THE NORTH

Korneeva E.V.¹, Voevoda M.I.², Semaev S.E.², Maksimov V.N.²

¹Surgut State University, Surgut, e-mail: evkorneeva39@rambler.ru;

²Institute of Therapy and Preventive Medicine - Department of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Department of the Russian Academy of Sciences," Novosibirsk

Objective: to study the combined effect of intergenic interactions on the development of metabolic disorders among young residents of the North. In a prospective cohort study of the 882 patients with metabolic syndrome, the following groups were identified: urban population – 245 people (146 women and 99 men), rural population – 354 people (108 men and 246 women), indigenous people of the north – 283 Khanty, including 72 men and 211 women. An anthropometric, laboratory, molecular genetic study of the gene polymorphism TCF7L2, MTHFR, ACE, ITGA2B, CSK was carried out. It was revealed that the studied polymorphic loci of the ACE and CSK genes ($p = 0.0053$) were often found among the cohort. Frequent combinations are identified in paired versions: ITGA2B / CSK (18.0%) and ACE / CSK (16.3%). Among indigenous and rural residents, a combination of ITGA2B / CSK genes was found in 18.9% and 18.6%, respectively. The combination of ACE / CSK genotypes was observed among the villagers (17.1%). Paired polymorphisms of the TCF7L2 / MTHFR and ACE / ITGA2B genes were found to a lesser extent both in the cohort and ethnic groups – among 4.3% of rural residents, 5.3% of Khanty and 5.8% of the urban population. **Conclusions:** the analysis of gene interactions revealed more statistically significant bilocus variants of ITGA2B / CSK and ACE / CSK, of which the CSK gene plays a significant role in the development of metabolic disorders.

Keywords: metabolic syndrome, single nucleotide polymorphism, intergenic interactions, TCF7L2, MTHFR, ACE, ITGA2B, CSK

Распространенность метаболического синдрома (МС) в настоящее время принимает глобальные размеры и имеет также этнические и гендерные различия, что указывает на влияние генетических факторов в этиологии данного заболевания [1]. Проведенные многочисленные исследования позволяют рассмотреть генетическую обусловленность мультифакториально развивающихся заболеваний, таких как ожирение, атеросклероз, нарушение толерантности к глюкозе и сахарный диабет (СД), артериальная гипертензия (АГ), дислипидемии, которые являются компонентами метаболического синдрома (МС) [2]. Однако рост частоты МС во всех социально-демографических группах еще раз доказывает влияние экологических факторов [3, 4]. Изменения в химии ДНК часто изучаются на клетках или тканях, несущих метаболическую нагрузку. Экспериментально доказано, что эпигенетические факторы наследуются и могут передаваться из поколения в поколение [1, 5]. Экспериментально при поиске различных биомodelей МС доказано, что метаболический синдром является полигенной патологией, при которой взаимодействие генов может добавлять и (или) усугублять метаболические нарушения [6].

Цель исследования – изучить сочетанное влияние генетических ассоциаций на развитие метаболических нарушений среди молодых жителей Севера.

Материалы и методы исследования

В ходе проспективного когортного исследования из 882 пациентов с МС были выделены следующие группы: городское население – 245 человек (146 женщин и 99 мужчин), сельское население – 354 человека (108 мужчин и 246 женщин), коренное население Севера – 283 ханты, из них 72 мужчины и 211 женщин [7]. У всех пациентов получено информированное согласие. Определением МС является наличие трех из пяти метаболических нарушений: повышенная окружность талии (ОТ) (в норме у женщин 80 см, у мужчин 94 см), уровень АД >140 и 90 мм рт. ст., повышение уровня триглицеридов ($\geq 1,7$ ммоль/л), снижение уровня липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) (3,0 ммоль/л), нарушенная гликемия натощак (уровень глюкозы плазмы натощак $\geq 6,1$) [8]. Молекулярно-генетическое исследование выполнено в НИИТПМ – филиале ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр ИЦиГ СО РАН». Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм генов тестировали с помощью полимеразной цепной реакции с полиморфизмом длин рестриционных фрагментов (ПЦР с ПДРФ) [7]. В таблице 1 представлена информация о локализации, кодируемом белке и функции исследованных однонуклеотидных полиморфизмов генов.

Таблица 1

Информация по изученным однонуклеотидным полиморфизмам генов

Однонукле	Локализац	Кодируемый	Функция
-----------	-----------	------------	---------

отидный полиморфизм (SNP) гена	ия в хромосоме	белок или гены	
rs1378942 CSK	15q24.1	Рядом ген CYP1A2, кодирует изофермент цитохром P450-зависимой монооксигеназы	Кодирует различные семейства тирозинкиназ, фосфорилирует С-концевой участок киназ Src-семейства, играющих роль в регуляции клеточного роста и дифференцировке нормальных клеток [9]
rs1801133 (C677T) MTHFR	1p36.3	Метилентетрагидрофолатредуктаза	Связан с нарушениями обмена гомоцистеина, оказывающего атерогенное действие (ингибирование роста эндотелиальных клеток, прооксидантное воздействие, митогенное влияние на гладкомышечные клетки, стимулирование аккумуляции белков в атероме и биосинтез коллагена) [10]
ITGA2B	17q21.32	Мембранный белок, димерный интегрин, состоящий из альфа цепи α IIb и бета цепи β 3	Экспрессируется на поверхности тромбоцитов, являясь рецептором фибриногена [11]
rs7903146 TCF7L2	10q25.3	Т-клеточный транскрипционный фактор 4	Регуляция секреции проглюкагона, влияющего на секрецию инсулина и на созревание β -клеток поджелудочной железы, из стволовых клеток [12]
rs1799752 ACE	17q23	Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ)	Регулирует кровяное давление и баланс электролитов, катализирует расщепление неактивного ангиотензина I до активного ангиотензина II [13]

Все этапы предобработки и анализа данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 3.5.3 (R Foundation for Statistical Computing) [14]. Описательные статистики для категориальных переменных представлены в процентах, для количественных переменных – в виде медианы (1-й и 3-й квартили выборочного распределения).

Для выявления отклонения наблюдаемых частот генотипов от теоретических частот, определяемых равновесием Харди–Вайнберга, использовался тест χ^2 для когорты в целом и групп участников (городские, сельские жители и ханты), отклонения считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для анализа совместного распределения частот пар генетических маркеров использовалась goodness-of-fit стратегия (тест χ^2) для тестирования гипотезы о равновесном сцеплении генетических маркеров, нулевая гипотеза отклонялась при $p < 0,05$. В

качестве оценок размера эффекта применялись отношения шансов с соответствующими 95%-ными доверительными интервалами. При выявлении значимых предикторов нами дополнительно исследовались взаимодействия данного гена с другими изучаемыми генами, для определения статистической значимости взаимодействия применялся тест отношения правдоподобий, взаимодействие расценивалось как статистически значимое при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 2 представлены эмпирические распределения изучаемых аллелей и генотипов в когорте участников исследования в целом и в группах.

Таблица 2

Обобщенная характеристика эмпирических распределений переменных, включенных в обобщенные линейные модели

		Когорта	Город	Село	Ханты	p-значение*
Изучаемые полиморфные локусы						
<i>ACE</i> (rs1799752)	DD	190 (21,6%)	63 (22,7%)	69 (20,5%)	58 (21,9%)	0,9132
	ID	453 (51,5%)	138 (49,8%)	175 (51,9%)	140 (52,8%)	
	II	236 (26,8%)	76 (27,4%)	93 (27,6%)	67 (25,3%)	
	D	833 (47,4%)	264 (47,7%)	313 (46,4%)	256 (48,3%)	0,8039
	I	925 (52,6%)	290 (52,3%)	361 (53,6%)	274 (51,7%)	
<i>TCF7L2</i> (rs7903146)	TT	52 (5,9%)	20 (7,2%)	18 (5,3%)	14 (5,3%)	0,8099
	CT	285 (32,3%)	90 (32,5%)	112 (33,0%)	83 (31,2%)	
	CC	545 (61,8%)	167 (60,3%)	209 (61,7%)	169 (63,5%)	
	C	1375(77,9%)	424 (76,5%)	530 (78,2%)	421 (79,1%)	0,5769
	T	389 (22,1%)	130 (23,5%)	148 (21,8%)	111 (20,9%)	
<i>ITGA2B</i>	DD	130 (14,7%)	44 (15,9%)	53 (15,6%)	33 (12,4%)	0,7597
	ID	397 (45,0%)	121 (43,7%)	154 (45,4%)	122 (45,9%)	
	II	355 (40,2%)	112 (40,4%)	132 (38,9%)	111 (41,7%)	
	D	657 (37,2%)	209 (37,7%)	260 (38,3%)	188 (35,3%)	0,5392
	I	1107 (62,8%)	345 (62,3%)	418 (61,7%)	344 (64,7%)	
<i>CSK</i> (rs1378942)	GG	174 (19,8%)	63 (22,8%)	58 (17,2%)	53 (19,9%)	0,1985
	GT	446 (50,7%)	134 (48,6%)	186 (55,2%)	126 (47,4%)	
	TT	259 (29,5%)	79 (28,6%)	93 (27,6%)	87 (32,7%)	
	G	794 (45,2%)	260 (47,1%)	302 (44,8%)	232 (43,6%)	0,4989
	T	964 (54,8%)	292 (52,9%)	372 (55,2%)	300 (56,4%)	
<i>MTHFR</i> (rs1801133)	TT	88 (10,0%)	30 (10,8%)	33 (9,7%)	25 (9,4%)	0,8588
	CT	328 (37,2%)	98 (35,4%)	133 (39,2%)	97 (36,5%)	
	CC	466 (52,8%)	149 (53,8%)	173 (51,0%)	144 (54,1%)	

	C	1260(71,4%)	396 (71,5%)	479 (70,6%)	385 (72,4%)	0,8054
	T	504 (28,6%)	158 (28,5%)	199 (29,4%)	147 (27,6%)	

Примечание: p – значения были получены с использованием теста χ^2 Пирсона для тестирования независимости распределения генотипов от принадлежности к группе; для тестирования различий групп по гендерному составу также использовался тест χ^2 Пирсона; для количественных переменных применялся тест Краскела–Уоллиса.

При анализе распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов исследуемых генов среди молодых жителей Севера нами не было выявлено статистически значимых различий между группами. Наиболее распространены в когорте были мутантные аллели T rs1378942 гена *CSK* (54,8%), D гена *ITGA2B* (37,2%), D rs1799752 гена *ACE* (47,4%). При исследовании соответствия наблюдаемых частот генотипов теоретическим частотам, определяемым равновесием Харди–Вайнберга, нами не было определено значимых отклонений для большинства полиморфных локусов в когорте в целом и в группах участников. Статистически значимое отклонение частоты генотипов выявлено в когорте ($p=0,0104$) и в группе городских жителей (0,0278) для полиморфного локуса гена участников *MTHFR*, а также для исследуемого локуса гена *CSK* в группе сельских жителей ($p=0,0370$). Результаты анализа равновесия представлены в таблице 3.

Таблица 3

P-значения для теоретических и наблюдаемых частот с использованием теста χ^2

	Когорта	Город	Село	Ханты
<i>ACE</i>	0,3438	1,0000	0,4453	0,3901
<i>TCF7L2</i>	0,0778	0,1306	0,5273	0,3559
<i>ITGA2B</i>	0,2800	0,2505	0,4909	1,0000
<i>CSK</i>	0,4962	0,7170	0,0370	0,5354
<i>MTHFR</i>	0,0104	0,0278	0,3586	0,1669

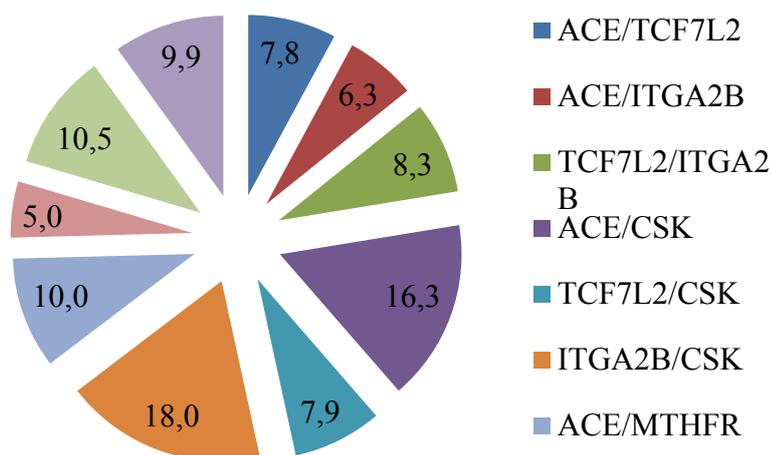


Рис. 1. Распределение частот пар генотипов среди обследованных пациентов с МС в когорте

На рисунке 1 представлено распределение частот пар генотипов среди всех обследованных пациентов с МС. Наиболее частые сочетания были выявлены при комбинации ITGA2B/CSK в 18,0% случаев, ACE/CSK у 16,3% пациентов с МС. Нами было определено, что изучаемые полиморфные локусы генов ACE и CSK ($p=0,0053$) встречались часто среди когорты. Выявленная ассоциация может представлять интерес с точки зрения механизма, поскольку гены расположены на разных хромосомах (17q23.3 и 15q24.1 соответственно), однако ввиду небольшого размера ($D = -0,0166$) данная ассоциация, вероятно, не является клинически значимой (табл. 4).

Таблица 4

Результаты анализа совместного распределения частот пар генотипов

	D-статистика	Статистика χ^2	P-значение
ACE/TCF7L2	-0,0004	0,0068	0,9343
ACE/ITGA2B	-0,0036	0,4012	0,5265
TCF7L2/ITGA2B	-0,0038	0,6355	0,4254
ACE/CSK	-0,0166	7,7739	0,0053
TCF7L2/CSK	0,0015	0,0889	0,7656
ITGA2B/CSK	0,0013	0,0490	0,8248
ACE/MTHFR	0,0019	0,1261	0,7225
TCF7L2/MTHFR	-0,0002	0,0027	0,9586
ITGA2B/MTHFR	0,0115	4,8474	0,0277
CSK/MTHFR	-0,0097	3,2429	0,0717

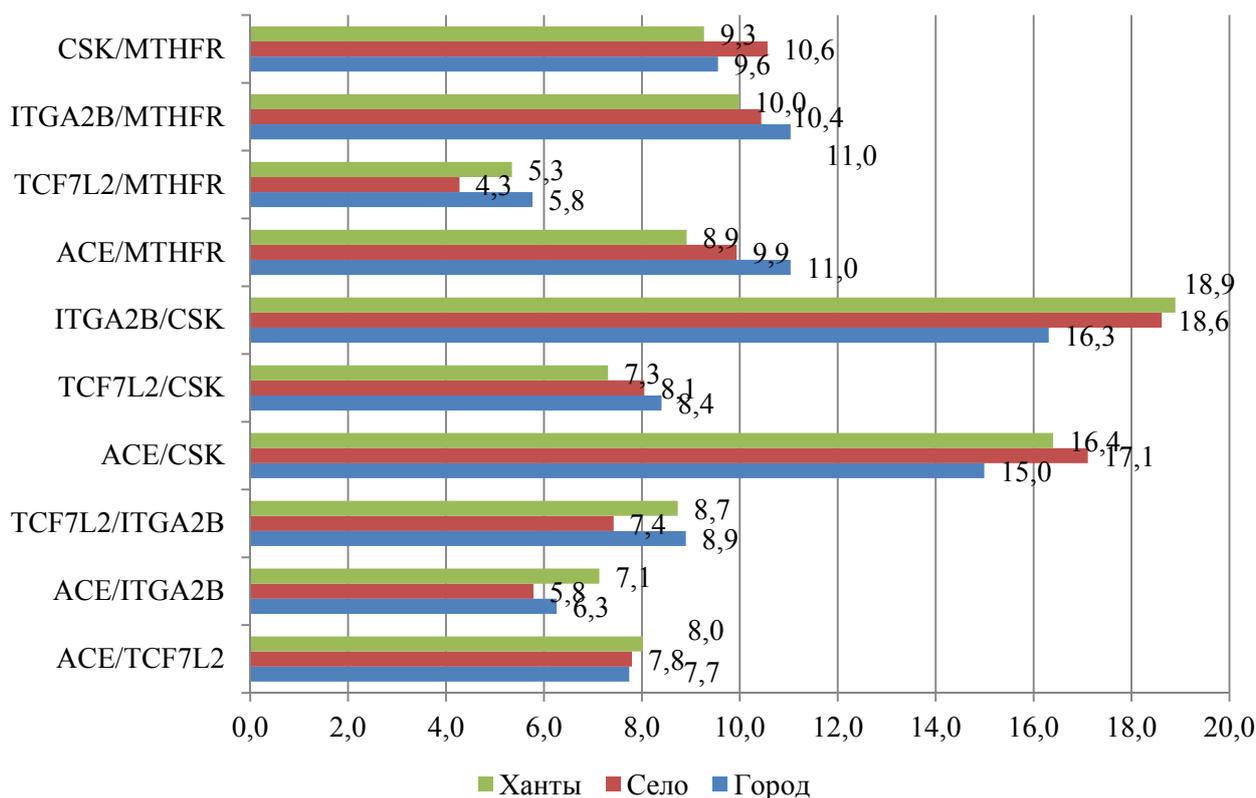


Рис. 2. Распределение частот пар генотипов среди обследованных пациентов города, села и коренных жителей (хантов)

При сравнительном анализе распределения частот среди коренного и некоренного населения в равной степени встречался вариант сочетания пар генотипов ITGA2B/CSK с незначительным преобладанием среди хантов. Вариант сочетания ACE/CSK был распространен среди некоренных жителей села (в 17,1%). В меньшей степени встречалось сочетание TCF7L2/MTHFR среди сельских пациентов с МС (4,3%) (рис. 2).

Изучение генетических факторов, способствующих развитию МС, демонстрирует полигенность данной патологии. Поиск и изучение генетических факторов метаболических нарушений часто оценивают как ассоциацию полиморфизма генов с отдельными компонентами МС, контролирующими адипогенез, липидный и углеводный обмен, участие факторов в развитии артериальной гипертензии. Много работ посвящено исследованиям нарушений одного гена или его полиморфизму. Так, согласно результатам ранее проводившихся исследований ген CSK регулирует через ферменты тирозинкиназ клеточный рост и дифференцировку нормальных клеток. При нарушении экспрессии данного гена происходит увеличение активности sck-тирозинкиназы в клетках-мишенях сердечно-сосудистой системы, почек, эндокринных органов и центральной нервной системы, тем самым потенцируется развитие артериальной гипертензии [9]. Известно, что гены TCF7L2

экспрессируются в жировой ткани и участвуют в Wnt-зависимой регуляции адипогенеза, поддерживающей преадипоциты в недифференцированном состоянии. При снижении или потере TCF7L2 в адипоцитах развивается инсулинорезистентность, при этом адипоциты гипертрофируются, нарушается липолиз, развивается гипертриглицеридемия [12]. При ожирении основным компонентом МС, патогенетическим фактором атеротромбогенеза является гиперактивность тромбоцитов, связанная с повреждением мембран тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов происходит благодаря присутствию на поверхности белков-интегринов (рецепторов), в частности гена ITGA2B [11]. Ген ACE кодирует ангиотензин-превращающий фермент (АПФ), играющий важную роль в регуляции кровяного давления и баланса электролитов, катализируя расщепление неактивного ангиотензина I до активного ангиотензина II [13]. Однонуклеотидный полиморфизм гена rs1801133 (C677T) MTHFR связан с нарушениями обмена гомоцистеина, оказывающего атерогенное действие на эндотелиальные клетки, прооксидантное воздействие путем стимуляции аккумуляции белков в атероме и биосинтеза коллагена [10].

Но в настоящее время все больше работ посвящено изучению взаимодействия генов-кандидатов и их совместного влияния на развитие МС. Сочетание полиморфизма ряда генов и определяет генетическую основу МС. Однако мутации генов в различных популяциях будут зависеть от гендерных, возрастных, этнических и средовых причин, увеличивая тем самым число вариантов МС [15]. Предрасположенность к МС чаще проявляется в результате сочетанного эффекта нескольких генов. При исследовании ассоциации генотипов и маркеров МС (увеличение ОТ, артериальная гипертензия, гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия, гипергликемия) в когорте и подгруппах участников были определены эффекты изучаемых полиморфных локусов генов. В результате были выявлены 10 статистически значимых двухлокусных моделей, определяющих предрасположенность к МС в когорте. Во всех парных моделях изучаемые гены присутствуют в равных долях, что свидетельствует об их вкладе в развитие МС. Но варианты изученных генов влияют на клиническое проявление МС неодинаково. Наиболее частое сочетание встречалось в следующих парных вариантах: ITGA2B/ CSK (18,0%) и ACE/CSK (16,3%). Среди коренных жителей и жителей сельской местности сочетание генов ITGA2B/ CSK встречалось в 18,9% и 18,6% соответственно. Встречаемость генотипов ACE/CSK чаще отмечалась среди жителей села (17,1%). Парные полиморфизмы генов TCF7L2/MTHFR и ACE/ITGA2B имели место в меньшей степени как в когорте, так и в этнических группах (рис. 3) – среди 4,3% сельских жителей, 5,3% хантов и 5,8% городского населения.

Заключение

Таким образом, каждый изученный однонуклеотидный полиморфизм пяти генов: *ACE*, *TCF7L2*, *ITGA2B*, *CSK*, *MTHFR* – вносит по отдельности вклад в клиническое проявление МС. При анализе взаимодействий генов выявлены чаще встречающиеся статистически значимые двухлокусные варианты *ITGA2B/CSK* и *ACE/CSK*, из которых ген *CSK* играет существенную роль в развитии МС. Определение генетических детерминант развития МС позволяет своевременно выявлять лиц с повышенным риском метаболических нарушений и проводить профилактические мероприятия, направленные на снижение проявлений метаболического синдрома.

Список литературы

1. Carson C., Lawson H.A. Epigenetics of metabolic syndrome. *Physiol Genomics*. 2018. Vol.50. no.11. P. 947-955.
2. Либерман И.С. Метаболический синдром в свете эволюционно-генетических закономерностей // Российский кардиологический журнал. 2002. №1. С. 85-89.
3. Aguilar M., Bhuket T., Torres S., Liu B., Wong R.J. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*.2015. Vol. 313. P. 1973–1974.
4. Ford E.S., Giles W.H., Dietz W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002. Vol.287. P. 356–359.
5. van Otterdijk S.D., Michels K.B. Transgenerational epigenetic inheritance in mammals: how good is the evidence? *FASEB J*.2016. Vol. 30. P. 2457–2465.
6. Клёсов Р.А., Степанова О.И. Генетические биомодели метаболического синдрома // Биомедицина. 2018. № 1. С.50-58.
7. Корнеева Е.В., Воевода М.И., Семаев С.Е., Максимов В.Н. Ассоциация генетических маркеров с развитием метаболического синдрома среди молодых жителей Севера // Современные проблемы науки и образования. 2019. №4. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29048>. (дата обращения: 02.04.2020).
8. Рекомендации по ведению больных с метаболическим синдромом: клинические рекомендации. Министерство здравоохранения РФ. М., 2013. 42 с.
9. Емельянова В.П., Баранова Л.А., Жорник Е.В., Науменко Л.В., Бирич Т.А., Волотовский И.Д. Клонирование кодирующей последовательности к ДНК тирозинкиназы семейства *CSK* из лимфоцитов крови человека *homo sapiens* // Молекулярная биология. 2007. Т.41. №.4. С. 654-658.

10. Holmes M.V., Newcombe P., Hubacek J.A., Sofat R., Ricketts S.L., Cooper J., Breteler M.M., Bautista L.E., Sharma P., Whittaker J.C., Smeeth L., Fowkes F.G., Algra A., Shmeleva V., Szolnoki Z., Roest M., Linnebank M., Zacho J., Nalls M.A., Singleton A.B., Ferrucci L., Hardy J., Worrall B.B., Rich S.S., Matarin M., Norman P.E., Flicker L., Almeida O.P., van Bockxmeer F.M., Shimokata H., Khaw K.T., Wareham N.J., Bobak M., Sterne J.A., Smith G.D., Talmud P.J., van Duijn C., Humphries S.E., Price J.F., Ebrahim S., Lawlor D.A., Hankey G.J., Meschia J.F., Sandhu M.S., Hingorani A.D., Casas J.P. Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomised trials. *Lancet*. 2011. Vol.378 (9791). P. 584–594.
11. Collier B.S. α IIb β 3: structure and function. *J. Thromb Haemost*. 2015. Vol.13. no.1. P.17-25.
12. Ferreira M.S., da Silva MER, Fukui R.T., Arruda-Marquez M.D.C. Correlation of TCF7L2 in insulin secretion and postprandial insulin sensitivity. *Diabetol Metab. Syndr*. 2018. no.10. P. 37.
13. Tiret L., Rigat B., Visvikis S., Breda C., Corvol P., Cambien F., Soubrier F. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am. J. Hum. Genet*. 1992. Vol.51. P.197-205.
14. Stowell Sarah. *Using R for Statistics*. Apress, 2014. P.244
15. Тыртова Л.В., Паршина Н.В., Скобелева К.В. Генетические и эпигенетические аспекты ожирения и метаболического синдрома, возможности профилактики в детском возрасте // *Педиатр*. 2013. Т.4. № 2. С. 3-11.